

KUALITAS DNA HASIL PURIFIKASI DARI SOSIS SAPI SEBAGAI BAHAN AUTENTIKASI HALAL BERBASIS MARKER GENETIK (DNA Quality of Purification from Beef Sausage as Halal Authentication Material Based on Genetic Marker)

Nurul Purnomo¹, Dhian Ramadhanty¹, Musdalifa Mansur¹, Maghfira Nur²,
dan Muhammad Ihsan A. Dagong^{2,3}.

¹Program Studi Peternakan, Universitas Muhammadiyah Sidenreng Rappang,
Jl. Angkatan 45 No. 1A Lt. Salo Sidenreng Rappang, 91651

²Laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10, Tamalanrea Indah, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245

³Departemen Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10, Tamalanrea Indah, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245
Email korespondensi: purnomo.nupo@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of the preparation method and the number of samples on the quality of purified DNA from beef sausage. The study was conducted using a Randomized Block Design. The main factor is the sample preparation method which consists of P1: fresh sample; P2: oven-dried sample; and P3: Freeze-drying dry samples. Each treatment consisted of 4 groups, namely K1: sample weight 25 mg; K2: sample weight 50 mg; K3: sample weight 75 mg; and K4: sample weight 100 mg. Each treatment group was repeated 2 times so that the total sample was 24. The results showed that DNA purification using different preparation methods and sample weights was successfully carried out, as seen from the presence of DNA bands visualized on agarose gel with EtBr staining. The average DNA quality of the P1, P2, and P3 preparation methods were 1.60 ± 0.90 ng/ μ l, 2.63 ± 0.99 ng/ μ l, and 2.94 ± 0.89 ng/ μ l respectively, with DNA purity 1.023 ± 0.165 , 0.937 ± 0.148 , and 1.014 ± 0.163 . The average DNA quality at K1, K2, K3, and K4 obtained DNA concentrations of 3.03 ± 1.64 ng/ μ l, 3.15 ± 0.74 ng/ μ l, 2.28 ± 1.66 ng/ μ l, and 2.54 ± 1.50 ng/ μ l with a purity of 1.059 ± 0.142 , 0.981 ± 0.130 , 0.908 ± 0.061 , and 1.061 ± 0.215 . The average total concentration of purified DNA from beef sausage was 2.75 ± 1.28 ng/ μ l with a purity of 0.991 ± 0.149 . The results of variance showed that the treatment did not affect the concentration and purity of purified DNA from beef sausage. This study concludes that DNA purification from beef sausage can be carried out, but the preparation method and number of samples do not affect the quality and quantity of DNA.

Keywords : halal authentication, genetic markers, processed livestock products, DNA purification, halal food

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode preparasi dan jumlah sampel terhadap kualitas DNA hasil purifikasi dari sosis sapi. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok. Faktor utama adalah metode preparasi sampel yang terdiri dari P1 : sampel segar; P2 : sampel kering-oven; dan P3 : sampel kering Freeze-drying. Setiap perlakuan terdiri dari empat kelompok, yaitu K1 : berat sampel 25 mg; K2 : berat sampel 50 mg; K3 : berat sampel 75 mg; dan K4 : berat sampel 100 mg. Masing-masing kelompok perlakuan diulang sebanyak 2 kali, sehingga total sampel 24. Hasil penelitian menunjukkan bahwa purifikasi DNA menggunakan metode preparasi dan berat sampel yang berbeda berhasil dilakukan, terlihat dari adanya pita DNA hasil visualisasi pada gel agarose dengan pewarnaan EtBr. Rata-rata kualitas DNA dari metode preparasi P1, P2 dan P3 masing-masing $1,60 \pm 0,90$ ng/ μ l, $2,63 \pm 0,99$ ng/ μ l, dan $2,94 \pm 0,89$ ng/ μ l dengan kemurnian DNA masing-masing $1,023 \pm 0,165$, $0,937 \pm 0,148$, dan $1,014 \pm 0,163$. Rata-rata kualitas DNA pada K1, K2, K3 dan K4 diperoleh konsentrasi DNA masing-masing $3,03 \pm 1,64$ ng/ μ l, $3,15 \pm 0,74$ ng/ μ l, $2,28 \pm 1,66$ ng/ μ l, dan $2,54 \pm 1,50$ ng/ μ l dengan kemurnian masing-masing $1,059 \pm 0,142$, $0,981 \pm 0,130$, $0,908 \pm 0,061$, dan $1,061 \pm 0,215$. Rata-rata total konsentrasi

DNA hasil purifikasi dari sosis sapi yaitu $2,75 \pm 1,28$ ng/ μ l dengan kemurnian $0,991 \pm 0,149$. Hasil sidik ragam menunjukkan perlakuan tidak mempengaruhi konsentrasi dan kemurnian DNA hasil purifikasi dari sosis sapi. Kesimpulan penelitian ini yaitu purifikasi DNA dari sosis sapi dapat dilakukan, tetapi perlakuan metode preparasi dan jumlah sampel tidak mempengaruhi kualitas dan kuantitas DNA.

Kata Kunci : autentikasi halal, marker genetik, olahan hasil ternak, purifikasi DNA, pangan halal

PENDAHULUAN

Sosis adalah produk pangan olahan yang terbuat dari campuran daging halus dengan penambahan tepung atau pati dan bumbu tambahan yang dimasukkan kedalam selongsong sosis (Herlina *et al.*, 2015). Penerimaan konsumen terhadap sosis di Indonesia cukup baik, terlihat dengan adanya peningkatan konsumsi rata-rata 4,46% pertahun (Santoso *et al.*, 2018). Sama seperti produk daging maupun olahan daging lainnya, sosis juga memiliki kerentanan yang tinggi terhadap pemalsuan dengan daging lain. Daging hewan lain yang umum digunakan untuk memalsukan daging halal adalah daging babi, anjing, kucing dan tikus.

Pemalsuan daging halal pada olahan daging seperti sosis dengan daging hewan non-halal merupakan isu sensitif di Indonesia. Hal ini disebabkan mayoritas penduduk Indonesia adalah muslim yaitu mencapai 204,8 juta (Charity, 2017) atau 87,18% dari penduduk Indonesia (Al-Fatih and Aditya, 2017), dan bagi umat muslim memiliki kewajiban untuk mengkonsumsi makanan yang halal dan dilarang mengkonsumsi makan haram sebagaimana yang tertuang dalam Al-Qur'an Surat Al-Maaidah ayat 88 (Zulaekah and Kusumawati, 2015). Untuk menjamin kehalalan produk pangan termasuk sosis, pemerintah telah menerbitkan Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal (Al-Fatih and Aditya, 2017), bahwa semua produk yang beredar di Indonesia terutama pangan harus sertifikat halal. Sertifikat dikeluarkan oleh Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal (BPJPH).

Saat ini telah dikembangkan beberapa metode autentikasi halal, antara lain metode enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Asensio *et al.*, 2008; Kuswandi *et al.*, 2017), electronic nose (e-nose), gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer (GCMS-HS) (Nurjuliana *et al.*, 2011; Kuswandi *et al.*, 2017), imuno- kromatografi atau yang dikenal sebagai rapid test (Kuswandi *et al.*, 2017), polymerase chain reaction (PCR)

(Pestana *et al.*, 2010; Soares *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2016; Al-Kahtani *et al.*, 2017; Perestam *et al.*, 2017), DNA hybridization (Ballin *et al.*, 2009) dan liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) (Klein-nijenhuis *et al.*, 2018). Metode yang diharapkan dapat diandalkan untuk autentikasi halal pada produk olahan daging seperti sosis adalah dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan metode ilmiah dalam bidang biologi molekuler untuk menggandakan satu atau beberapa salinan potongan DNA pada beberapa urutan besarnya, menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan urutan DNA tertentu (Joshi and Deshpande, 2011). Metode PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies makhluk hidup menggunakan DNA Barcode (Hebert *et al.*, 2003). Dengan kemampuan mengidentifikasi spesies maka kita bisa mengetahui jenis daging apa saja yang digunakan dalam pembuatan sosis, sehingga jika ada campuran daging non-halal bisa diidentifikasi.

Untuk melakukan autentikasi halal menggunakan metode PCR diperlukan DNA template yang berasal dari sampel dengan konsentrasi dan kemurnian yang baik. Namun saat ini belum ada panduan yang jelas tentang metode preparasi dan jumlah sampel sosis untuk autentikasi halal menggunakan metode PCR. Dengan demikian diperlukan penelitian tentang metode preparasi dan jumlah sampel sosis sebagai bahan autentikasi halal berbasis marker genetik menggunakan PCR. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas DNA hasil purifikasi dari sosis sapi dengan metode preparasi dan jumlah sampel yang berbeda.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar. Bahan sampel yang digunakan adalah sosis sapi Bernardi® yang diproduksi PT. Eloda Mitra. Untuk ekstraksi DNA menggunakan Tia Namp

Genomic DNA Kit® dari Tiangen Biotech (Beijing), Co.LTD.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 3 perlakuan dan 4 kelompok. Perlakuan 1: sampel segar (P1); perlakuan 2: sampel kering-oven (P2); dan perlakuan 3: sampel kering *Freeze-drying* (P3). Setiap perlakuan terdiri dari 4 kelompok, yaitu kelompok 1: berat sampel 25 mg (B1); kelompok 2: berat sampel 50 mg (B2); kelompok 3: berat sampel 75 mg (B3); dan kelompok 4: berat sampel 100 mg (B4). Masing-masing kelompok perlakuan diulang sebanyak 2 kali, sehingga total sampel menjadi 24.

Prosedur kerja penelitian ini yaitu: menyiapkan sampel sosis sapi sesuai kebutuhan. Sampel sosis sapi kemudian digerus hingga halus menggunakan mortar. Menimbang sampel untuk perlakuan 1–3 dengan berat sesuai kelompok perlakuan 1–4 dan masing-masing kelompok perlakuan berjumlah 2 ulangan. Sampel untuk kelompok segar disimpan dalam freezer untuk menunggu sampel kelompok lain siap dipurifikasi. Sampel kering-oven dikeringkan pada oven menggunakan suhu 70°C selama 20 jam. Sampel kering *Freeze-Drying* dikeringkan menggunakan mesin *Freeze Drying* pada suhu -40°C tekanan 0,12 mbar selama 20 jam. Selanjutnya sampel dipurifikasi mengikuti petunjuk dari TiaNamp Genomic DNA Kit® yang diproduksi oleh Tiangen Biotech (Beijing), Co. LTD. Kualifikasi DNA hasil purifikasi divisualisasi pada gel agarose 1,5% dengan pewarnaan EtBr. Quantifikasi DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer UV VIS Spectrophotometer, Thermo Spectronic, Genesys 10S UV VIS pada panjang gelombang 160 dan 180 nm. Untuk menghitung konsentrasi DNA dan Kemurnian DNA mengacu pada rumus Sambrook *et al.* (1989):

$$\text{Konsentrasi DNA} = A_{260} \times 50 \times (\text{faktor pengencer})$$

$$\text{Kemurnian DNA} = A_{260}/A_{280}$$

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati adalah kualitas DNA yang terdiri dari konsentrasi DNA dan kemurnian DNA hasil purifikasi dari sampel sosis sapi.

Analisis data

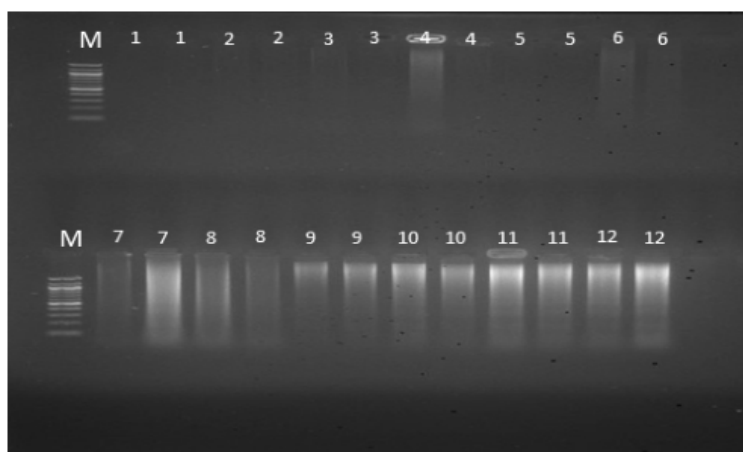
Data yang diperoleh dianalisis ragam berdasarkan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan menggunakan SPSS 16 dari IBM mengacu pada Sudjana (2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Visualisasi DNA hasil ekstrak dari sosis sapi pada gel agarose

Penelitian ini menunjukkan bahwa purifikasi DNA dari sosis sapi menggunakan TiaNamp Genomic DNA Kit® dari Tiangen Biotech (Beijing), Co.LTD berhasil. Sebagai mana terlihat pada Gambar 1 menunjukkan adanya pita-pita DNA dengan panjang lebih dari 30 kbp pada gel agarose 1,5% dengan pewarnaan EtBr. Hasil visualisasi menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan sampel yang dikeringkan (sampel 5 sampai 8 kering oven dan sampel 9 sampai 12 kering beku / *freeze-drying*) menghasilkan DNA dengan konsentrasi lebih tinggi yang ditandai dengan ketebalan pita yang lebih tebal dan jelas. Selain itu, jumlah sampel yang lebih besar juga menunjukkan peningkatan konsentrasi DNA. Gel elektroforesis adalah teknik umum yang digunakan untuk memvisualisasikan protein dan DNA. Elektroforesis gel memungkinkan visualisasi DNA dan RNA dengan penggunaan *marker*. Proses ini dicapai dengan memisahkan sampel berdasarkan ukuran dan daya listrik. Semakin tinggi konsentrasinya, semakin rapat matriks pemisahannya. Perbedaan konsentrasi akan menentukan panjang pasangan kilobase (kbp) yang divisualisasikan melalui *slab*. (Anderson *et al.*, 2013).

Agarose adalah polimer linier alami yang diekstraksi dari rumput laut yang membentuk matriks gel dengan ikatan hidrogen setelah dipanaskan dalam buffer dan dibiarkan dingin. Secara umum aplikasi tersebut hanya memerlukan komponen agarose tunggal dan tidak diperlukan katalis polimerisasi. Oleh karena itu, gel agarose sederhana dan cepat dibuat (Chawla, 2004). Gel agarose merupakan media yang paling populer untuk pemisahan asam nukleat berukuran sedang dan besar dan memiliki jarak pemisahan yang luas tetapi daya pemisahannya relatif rendah, karena pita yang terbentuk di dalam gel cenderung tidak jelas dan menyebar terpisah. Hal ini adalah akibat dari ukuran pori yang tidak



Gambar 1. Fisual DNA hasil purifikasi dari sosis sapi pada gel agaros 1,5% dengan pewarnaan EtBr. Ket : M (DNA ladder 100 bp); 1 (DNA sosis segar 25 mg); 2 (DNA sosis segar 50 mg); 3 (DNA sosis segar 75 mg); 4 (DNA sosis segar 100 mg); 5 (DNA sosis kering oven 25 mg); 6 (DNA sosis kering oven 50 mg); 7 (DNA sosis kering oven 75 mg); 8 (DNA sosis kering oven 100 mg); 9 (DNA sosis *freeze drying* 25 mg); 10 (DNA sosis *freeze drying* 50 mg); 11 (DNA sosis *freeze drying* 75 mg); 12 (DNA sosis *freeze drying* 100 mg).

dapat dikontrol (Stellwagen, 1998). Sementara itu, Ethidium Bromida ditambahkan ke gel untuk meningkatkan visibilitas DNA dalam gel (Anderson *et al.*, 2013). Untuk memvisualisasikan DNA, Etidium Bromida ditambahkan yang memungkinkan visualisasi yang konsisten (Borst, 2005).

Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil purifikasi dari sosis sapi

Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA yang diekstrak dari sosis sapi dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 menunjukkan konsentrasi DNA hasil purifikasi dari sosis sapi dengan kombinasi perlakuan preparasi sampel segar, kering-oven dan *freeze-drying* dengan perlakuan jumlah sampel 25mg, 50mg, 75mg dan 100mg. Konsentrasi DNA hasil purifikasi dari sosis sapi rata-rata $2,75 \pm 1,28$ ng/ μ l, konsentrasi DNA terendah diperoleh pada kombinasi perlakuan sampel segar dengan berat sampel

75 mg yaitu $0,90$ ng/ μ l, sedangkan konsentrasi DNA tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan *freeze-drying* dengan jumlah sampel 25 mg yaitu $4,55$ ng/ μ l. Rata-rata konsentrasi DNA pada metode preparasi sampel segar, kering-oven dan *freeze-drying* masing-masing $1,60 \pm 0,90$ ng/ μ l, $2,63 \pm 0,99$ ng/ μ l dan $2,94 \pm 0,89$ ng/ μ l, sedangkan rata-rata konsentrasi DNA pada berat sampel 25 mg, 50 mg, 75 mg dan 100 mg yaitu $3,03 \pm 1,64$ ng/ μ l, $3,15 \pm 0,74$ ng/ μ l, $2,28 \pm 1,66$ ng/ μ l dan $2,54 \pm 1,50$ ng/ μ l. Terdapat kecenderungan bahwa konsentrasi DNA pada metode preparasi *freeze-drying* menghasilkan DNA dengan konsentrasi lebih tinggi dibanding metode preparasi kering-oven dan sampel segar. Sementara pada jumlah sampel, berat sampel 50 mg menghasilkan DNA dengan konsentrasi lebih tinggi dibanding jumlah sampel 25 mg, 75 mg dan 100 mg. Namun, hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan metode preparasi dan jumlah sampel tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap

Tabel 1. Konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari sosis sapi dengan metode preparasi dan jumlah sampel yang berbeda.

Preparasi sampel	Berat sampel (mg)				Rata-rata
	25	50	75	100	
Sampel segar	1,30	2,93	0,90	1,27	$1,60 \pm 0,90$
Kering oven	3,25	3,98	1,83	2,15	$2,63 \pm 0,99$
<i>Freeze drying</i>	4,55	2,55	4,13	4,20	$2,94 \pm 0,89$
Rata-rata	$3,03 \pm 1,64$	$3,15 \pm 0,74$	$2,28 \pm 1,66$	$2,54 \pm 1,50$	$2,75 \pm 1,28$

Tabel 2. Kemurnian DNA hasil ekstraksi dari sosis sapi dengan metode preparasi dan jumlah sampel yang berbeda.

Preparasi Sampel	Berat Sampel (mg)				Rata-rata
	25	50	75	100	
Sampel segar	0,964	0,958	0,902	1,267	1,023±0,165
Kering oven	0,991	1,121	0,800	0,837	0,937±0,148
<i>Freeze drying</i>	1,22	0,864	0,908	1,061	1,014±0,163
Rata-rata	1,059±0,142	0,981±0,130	0,908±0,061	1,061±0,215	0,991±0,149

konsentrasi DNA yang dipurifikasi dari sosis sapi.

Tingkat kemurnian DNA hasil purifikasi dari sosis sapi dengan metode preparasi sampel segar, kering-oven dan *freeze-drying* dan jumlah sampel 25 mg, 50 mg, 75 mg dan 100 mg disajikan pada Tabel 2. Rata-rata tingkat kemurnian DNA hasil purifikasi dari sosis sapi 0,991±0,149, kemurnian DNA terendah 0,800 diperoleh pada preparasi sampel kering-oven dengan jumlah sampel 75 mg, sedangkan kemurnian DNA tertinggi 1,267 diperoleh pada preparasi sampel segar dengan berat sampel 100 mg. Rata-rata kemurnian DNA pada metode preparasi sampel segar, kering-oven dan *freeze-drying* masing-masing adalah 1,023±0,165, 0,937±0,148, dan 1,014±0,163. Sementara rata-rata kemurnian DNA pada berat sampel 25 mg, 50 mg, 75 mg dan 100 mg masing-masing 1,059±0,142, 0,981±0,130, 0,908±0,061, dan 1,061±0,215. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa metode preparasi sampel dan jumlah sampel tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap kemurnian DNA yang dipurifikasi dari sosis sapi.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sejalan dengan Popping *et al.* (2010) bahwa hasil purifikasi DNA dari produk makanan olahan berkisar 0,1-5 µg/100 mg produk. Namun, konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh pada penelitian ini jauh lebih rendah jika dibanding konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh pada purifikasi DNA dari daging. Hutami *et al.* (2018) dan Biase *et al.* (2002) masing-masing melaporkan memperoleh DNA dengan konsentrasi 177,20 - 547,45 ng/µl dan kemurnian 1,93-1,97 pada daging sapi segar dan konsentrasi 483,3 ng/µl kemurnian 1,80 pada daging babi.

Nilai kemurnian DNA yang baik untuk penelitian molekuler berkisar 1,8-2. Nilai kemurnian DNA kurang dari 1,8 mengindikasikan ekstrak DNA masih mengandung residu phenol dan pelarut

lainya. Sedangkan nilai kemurnian lebih dari 2 mengindikasikan ekstrak DNA mengandung kontaminan dari senyawa protein (Sambrook *et al.*, 1989). Konsentrasi DNA yang diperlukan untuk PCR yaitu 10 ng/µl, jika konsentrasi DNA terlalu tinggi harus dilakukan pengenceran, sedangkan jika konsentrasi DNA kurang dari 10 ng/µl tidak perlu diencerkan (Seipp *et al.*, 2010).

Meskipun konsentrasi dan kemurnian DNA yang diperoleh dalam penelitian ini berada di bawah standar umum untuk PCR, namun masih ada kemungkinan DNA hasil purifikasi dari sosis sapi dapat digunakan untuk autentikasi halal menggunakan marker DNA. Hal ini didasarkan pada (Riffiani *et al.*, 2015) yang berhasil melakukan amplifikasi DNA bakteri dengan konsentrasi 14,839 µl/ml dengan kemurnian 0,9581. Selain itu, (Ståhlberg and Kubista, 2018) menyatakan bahwa PCR juga dapat dilakukan menggunakan sampel sel tunggal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa purifikasi DNA dari sosis sapi masih dapat dilakukan, namun kualitas DNA hasil purifikasi dari sosis sapi berada dibawah standar umum untuk PCR. Metode preparasi sampel *freeze-drying* menghasilkan DNA dengan konsentrasi dan kemurnian yang lebih tinggi dibanding metode kering-oven dan sampel segar. Jumlah sampel tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi dan kemurnian DNA hasil purifikasi dari sosis sapi.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang metode purifikasi DNA dari sosis sapi untuk menghasilkan DNA dengan konsentrasi dan kemurnian yang lebih baik.

Perlu dilakukan pengujian amplifikasi untuk mengetahui jenis primer DNA barcode yang sesuai untuk autentikasi halal pada produk olahan hasil ternak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional yang telah mendanai sepenuhnya penelitian ini melalui Lembaga Penelitian, Publikasi, dan Pengabdian Masyarakat (LP3M) Universitas Muhammadiyah Sidenreng Rappang dengan Skema Penelitian Dosen Pemula (PDP). Penulis juga ingin menyampaikan penghargaan kepada Prof. Asmuddin Natsir yang telah mengizinkan untuk menggunakan Laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Fatih, S., dan Z. F. Aditya. 2017. Perbandingan Hukum Fatwa Halal di Beberapa Negara (Kajian Yuridis Fatwa Halal MUI dan Fatwa Halal dari Lembaga Lain di Luar Negeri. Perbandingan Hukum dan Perkembangan Sistem Hukum. Konvergensi atau Divergensi. Univ. Airlangga, Surabaya. pp 1-25.
- Al-Kahtani, H., E. Ismail, and M. Ahmed. 2017. Pork detection in binary meat mixtures and some commercial food products using conventional and real-time PCR techniques. *Food Chem.*, 219: 54-60.
- Anderson, J., D. Wright, and K. Meksem. 2013. Agarose Gel Electrophoresis and Polyacrylamide Gel Electrophoresis for Visualization of Simple Sequence Repeats. In *Microsatellites*. Humana Press, Totowa, N J. pp. 167-177.
- Asensio, L., I. González, T. García, and R. Martín. 2008. Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food control*, 19(1): 1-8.
- Ballin, N., F. Vogensen, and A. Karlsson. 2009. Species determination-Can we detect and quantify meat adulteration. *Meat Sci.*, 83: 165-174.
- Biase, F.H., M. M. Franco, L. R. Goulart, and R. C. Antunes. 2002. Protocol for extraction of genomic DNA from swine solid tissues. *Genet. Mol. Biol.*, 25: 313-315.
- Borst, P. 2005. Critical review Ethidium DNA agarose gel electrophoresis : how it started. *IUBMB life*, 57(11): 745-747.
- Charity, M. L. 2017. Jaminan Produk Halal di Indonesia (Halal Products Guarantee in Indonesia). *J. Legis Indonesia*, 14: 99-108.
- Chawla, H.S. 2004. Basic techniques. Introduction to plant biotechnology, 2nd edition. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, and R. Jeremy. 2003. Biological identification through DNA barcodes Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512) pp. 313-321.
- Herlina, I. Darmawan, dan A. S. Rusdianto. 2015. Penggunaan tepung glukomanan umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) sebagai bahan tambahan makanan pada pengolahan sosis daging ayam. *J. Agroteknologi*, 09: 134-144.
- Hutami, R., H. Bisyri, H. Nuraini, dan R. Ranasasmita. 2018. Ekstraksi DNA dari daging segar untuk analisis dengan metode loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *J. Agroindustri Halal*, 4: 209-216
- Joshi, M., and J. D. Deshpande. 2011. Polymerase chain reaction : methods , principles and application. *Int. J. Biomed. Res.*, 2: 81-97.
- Kim, M., I. Yoo, S. Y. Lee, Y. Hong, and H. Y. Kim. 2016. Quantitative detection of pork in commercial meat products by TaqMan® real-time PCR assay targeting the mitochondrial D-loop region. *Food Chemistry*, 210: 102-106.
- Klein-nijenhuis, A, F. Van-Holthoon, and G. Herregods. 2018. Validation and theoretical justification of an LC-MS method for the animal species specific detection of gelatin. *Food Chem.*, 243: 461-467.
- Kuswandi, B., A. Gani, and M. Ahmad. 2017. Immuno strip test for detection of pork adulteration in cooked meatballs. *Food Biosci.*, 19: 1-6.

- Nurjuliana, M., Y. Che-Man, D. Mat-Hashim, and A. Mohamed. 2011. Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer. *Meat Sci.*, 88: 638–644.
- Perestam, A., K. Fujisaki, O. Nava, and R. Hellberg. 2017. Comparison of real-time PCR and ELISA-based methods for the detection of beef and pork in processed meat products. *Food Control*, 71: 346–352.
- Pestana, E., S. Belak, and A. Diallo. 2010. *Early Rapid and Sensitive Veterinary Molecular Diagnostics Real-time PCR Application*. Springer Science & Business Media., Dordrecht (DE).
- Popping, B., C. Diaz-Amigo, and K. Hoenicke. 2010. *Molecular Biological and Immunological Techniques and Application for Food Chemists*. John Wiley and Sons, Inc., New Jersey, Canada.
- Riffiani, R., N. Sulistinah, and B. Sunarko. 2015. Comparison of three dna isolation and purification methods of bacterial DNA. *KnE Life Sci.*, 2: 491–494.
- Sambrook, J., F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual*. New York (US): Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Santoso, I., S. A. Mustaniroh, dan D. Pranowo. 2018. Keakraban produk dan minat beli frozen food: peran pengetahuan produk, kemasan, dan lingkungan sosial. *Jurnal Ilmu Keluarga & Konsumen*, 11(2): 133–144.
- Seipp, M. T., M. Herrmann, C. T. Wittwer. 2010. Automated DNA Extraction, Quantification, Dilution, and PCR Preparation for Genotyping by High-Resolution Melting. *J. Biomol. Tech.*, 21: 163–166.
- Soares, S., J. Amaral, M. Oliveira, and I. Mafra. 2013. A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed poultry meat products. *Meat Sci.*, 95: 115–120.
- Ståhlberg, A., and M. Kubista. 2018. Technical aspects and recommendations for single-cell qPCR. *Mol. Aspects Med.*, 59: 28–35.
- Stellwagen, N. C. 1998. *DNA gel electrophoresis. Nucleic acid electrophoresis laboratory manual*. D Tietz, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- Sudjana. 2005. *Metoda Statistika Cetakan III*. Tarsito, Bandung.
- Zulaekah, S., dan Y. Kusumawati. 2015. Halal dan haram makanan dalam islam. *SUHUF*, 17: 25–35.